



①⑨ **BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENTAMT**

⑫ **Gebrauchsmuster**
⑩ **DE 298 01 523 U 1**

⑤① Int. Cl.⁶:
B 01 L 3/02

②① Aktenzeichen:	298 01 523.4
②② Anmeldetag:	30. 1. 98
④⑦ Eintragungstag:	23. 4. 98
④③ Bekanntmachung im Patentblatt:	4. 6. 98

⑥⑥ Innere Priorität:
197 06 322. 5 18. 02. 97

⑦③ Inhaber:
Institut für Physikalische Hochtechnologie e.V.,
07743 Jena, DE

⑦④ Vertreter:
R.-G. Pfeiffer und Kollegen, 07743 Jena

⑤④ Mikropipette oder Mikroaktor

BEST AVAILABLE COPY
1 N 525 10 862 3D

DE 298 01 523 U 1

30.01.98

U0863 Patentanwaltsbüro Pfeiffer & Partner, Helmholtzweg 4, 07743 Jena

Mikropipette oder Mikroaktor

Beschreibung

5 Die Erfindung betrifft eine Mikropipette oder einen Mikroaktor, die in extrem miniaturisierter Form ausbildbar sind. Eine besonders bevorzugte Verwendung findet die Mikropipette zum dosierten und automatisierbaren Befüllen und Entleeren von Mikrokommerarrays. Solche Arrays von Mikrokommer mit Einzelkommerervolumina im
10 Submikroliterbereich finden in der Biotechnologie, beim Wirkstoffscreening und in der kombinatorischen Chemie für eine parallele und automatisierte Handhabung kleinster Flüssigkeitsmengen Anwendung. Unter Beibehaltung der Ausbildung der Mikropipettenstruktur läßt sich durch eine geringfügige Variation die
15 Vorrichtung auch als Mikroaktuator einsetzen, der bspw. für Multifunktionsventile, für optische Funktionselemente oder Spezial-Mikropipetten verwenden läßt.

20 Nach dem Stand der Technik sind Mikropipetten bekannt, die zur Flüssigkeitsaufnahme und -abgabe mehr oder weniger große Einzelkapillaren einsetzen, die ggf. auch in paralleler Anordnung mit ein oder mehreren Gasvolumina mit einem Druck beaufschlagbar sind. Bei diesem Konstruktionsprinzip stößt man aber bei den im Rahmen der Erfindung vorgesehenen, dosiert abzugebenden bzw. aufzunehmenden
25 kleinsten Volumina im Submikroliterbereich an technische Grenzen. Zur Handhabung kleiner Flüssigkeitsmengen sind weiterhin mikrolithografisch hergestellte Pumpen bekannt, die mit Membranen versehen sind und auf einem piezoelektrischen (DE 44 05 026 A1) oder elektrothermischen (DE 40 27 989 A1; DE 42 20 077 A1;
30 DE 42 39 464 A1) Antriebsprinzip beruhen. Derartige Membranpumpen sind äußerst empfindlich gegen bei ihrem Betrieb nicht zu vermeidende Verunreinigungen oder den Einfluß von im zu fördernden fluiden Medium enthaltenen Gasbläschen. Eine Umkehrung der Förderrichtung des fluiden Mediums ist bei diesen Membranpumpen problematisch. Aus
35 WO 96/00614 ist eine Probenaufnahmevorrichtung zur Aufnahme und Abgabe von Blut bekannt, bei der eine mit einer Kanüle in Verbindung

stehende Druckkammer vorgesehen ist, die durch Beheizung respektive Abkühlung Probenflüssigkeit abgibt bzw. aufnimmt. Die konstruktive Ausbildung dieser Lösung ist jedoch nicht für eine reproduzierbare präzise Aufnahme- und Abgabe von Flüssigkeiten im nl-Bereich geeignet.
5 R. Zengerle gibt in F&M 104 (1996) 4, S. 241-248 einen umfassenden Überblick über den Stand der Technik bei mikrofluidischen Aktoren. Bei der Vielzahl solcher Aktoren, die i.d.R. mit bewegten Membranen arbeiten, sind auch solche bekannt geworden, bei denen eine Gasdruckabgabe ausgehend von einer thermisch beheizten Mikrokammer
10 erfolgt. Solche Systeme finden nach dem bekannten Stand der Technik jedoch nur für bestimmte Ventilausbildungen Anwendung.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine robuste Mikropipette oder einen Mikroaktor anzugeben, die eine hochgenau dosierbare Abgabe
15 oder Aufnahme von Flüssigkeitsvolumina im nl- bis μ l-Bereich oder eine hochgenaue Verschiebung eines Stößels im μ m- bis mm-Bereich ermöglicht und in miniaturisierter Form die Ausbildung einer Vielzahl von Kapillarkanälen zuläßt, wodurch zum einen eine automatisierbare Befüllung oder Entleerung von Mikrokammerarrays im
20 Submikroliterbereich realisierbar ist und zum anderen mehrere Stößel ansteuerbar sind.

Die Aufgabe wird durch die Merkmale des ersten Schutzanspruchs gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen sind durch die nachgeordneten Ansprüche erfaßt.

25 Das Wesen der Erfindung besteht darin, daß eine thermisch definiert steuerbare Expansion eines Gases bzw. eines Flüssigkeitsdampfes in einer geschlossenen zu wenigstens einer Kapillare hin offenen Druckkammer, eine Bewegung einer in der Kapillare befindlichen
30 Flüssigkeitssäule bzw. eines Stößels erzeugt und die Kapillare von der Druckkammer thermisch getrennt ist.

Die Erfindung soll nachstehend anhand von zwei Ausführungsbeispielen näher erläutert werden. Es zeigen:

- Fig. 1a in Draufsicht die wesentlichen Bestandteile einer Ausführungsmöglichkeit einer Mikropipette im Ruhezustand,
Fig. 1b die Mikropipette nach Fig. 1a in einem ersten Betriebszustand (Entleerung),
5 Fig. 1c die Mikropipette nach Fig. 1a in einem zweiten Betriebszustand (Befüllung),
Fig. 1d eine spezielle Kapillarenausbildung,
Fig. 2 eine detailliertere Darstellung einer Ausführungsmöglichkeit der Mikropipette
10 Fig. 3 stellt die Geschwindigkeit eines Flüssigkeitstransports in Abhängigkeit der eingespeisten Heizleistung für zwei beispielhafte Druckkammern dar,
Fig. 4 zeigt die Abhängigkeit des Hubes einer Flüssigkeitssäule von der Frequenz der eingespeisten Heizleistung und.
15 Fig. 5 einen thermisch getriebenen pneumo-hydraulischen Mikroaktor in einem seitlichen Schnitt.

Figur 1 zeigt schematisch in Draufsicht ein Substrat 2, bspw. bestehend aus Silizium, in das mittels mikrolithografischer Strukturierungsverfahren
20 ein im abgedeckten Zustand als Kapillarkanal 1 wirkender Graben eingebracht ist. An den Mikrokanal schließt sich eine Druckkammer 3 an, die in diesem Beispiel vorteilhafterweise in einem Prozeßschritt mit der Erzeugung des Kapillarkanals durch eine Tiefenätzung hergestellt ist. Diese Tiefenätzung wird dabei so ausgeführt, daß eine sich bildende
25 großflächige Druckkammerwandung 31 als eine steife Membran verbleibt, der bspw. eine Dicke von 50 µm gegeben ist. Auf diese Kammerwandung ist, vorzugsweise von außen, ein elektrisch ansteuerbares Heizmittel 4 aufgebracht, das insbesondere durch einen mäandriert strukturierten Dünnschichtheizwiderstand gebildet ist. Die
30 Seite des Substrats 2, in die die genannten Strukturen eingebracht sind, ist im weiteren mit einer planen Platte, bspw. aus einem Glas bestehend, abgedeckt und z.B. durch anodisches Bonden mit dieser verbunden. Ebenso ist es im Rahmen der Erfindung möglich, statt der Aufbringung einer Glasplatte zwei identische, spiegelbildlich strukturierte Substrate 2
35 miteinander zu verbinden. Wird der Dünnschichtheizwiderstand 4 mit einer definierten und regelbaren elektrischen Spannung beaufschlagt,

erfährt das in der Druckkammer 3 befindliche Gasvolumen eine definierte Ausdehnung und die in der Kapillare 1 befindliche Flüssigkeitssäule 6 wird aus der Kapillare 1 verdrängt, wie es in Fig. 1b durch einen Pfeil angedeutet ist. Bei Erniedrigung der am Dünnschichtheizwiderstand 4 anliegenden elektrischen Spannung kühlt sich das in der Druckkammer 3 befindliche Gas ab und die Kapillare 1 kann mit Flüssigkeit befüllt werden, wie es in Fig. 1c durch einen zu Fig. 1b entgegengesetzten Pfeil angedeutet ist. Damit ist eine Mikropipette geschaffen, die in gleicher Weise definiert entleerbar und befüllbar ist und die in der automatisierten Analysentechnik, insbesondere für kleinste Probenvolumina in der Größenordnung bis herab zu 10 nl einsetzbar ist. Es liegt ausdrücklich im Rahmen der Erfindung, eine einzelne Druckkammer 3, bei entsprechender Volumendimensionierung, mit mehreren Kapillarkanälen zu versehen, die zueinander parallel ausgerichtet und voneinander bis herunter zur Größenordnung des Kapillarendurchmessers beabstandet sein können. Damit wäre eine effektive Handhabe zur Befüllung oder Entleerung von Mikrokammerarrays geschaffen.

Weiterhin sind im Rahmen der Erfindung im Bereich der Verbindung der Kapillare(n) 1 mit der Druckkammer 3 Wärmesenkenmittel 5 vorgesehen, die eine weitestgehend thermische Entkopplung zwischen der Druckkammer 3 und der Flüssigkeitssäule 6 bewirken und damit die Empfindlichkeit der Ansteuerung der Mikropipette erhöhen. Die Ausbildung derartiger Wärmesenken kann auf unterschiedliche Weise realisiert werden. Zum einen können sie durch in das Substrat 2 eingebrachte Ausnehmungen 4 gebildet sein, welche beidseitig der Kapillare 1 im Bereich deren Anbindung an die Druckkammer 3 vorgesehen sind. Zum anderen ist die zusätzliche oder ausschließliche Anbringung von nicht näher dargestellten, mit Rippen versehenen Kühlkörpern möglich, die die gesamte Mikropipette im bezeichneten Bereich von außen umfassen. Letztere Ausführung würde sich insbesondere beim Vorsehen von mehreren Kapillaren 1 anbieten.

In Figur 2 ist eine detaillierter Ausführungsmöglichkeit einer Mikropipette in teilweiser Explosionsdarstellung perspektivisch gezeigt. Hier ist erstmals die in den Figuren 1 genannte, dem einseitigen Verschluß des strukturierten Substrates 2 dienende Glasplatte 7

abgebildet. Weiterhin ist dem Dünnschichtheizwiderstand 4 ein Meßfühler 8 zugeordnet, mit dessen Hilfe, bei entsprechender Einbindung in einen Steuer- und Regelkreis eine hochpräzise Temperaturbeaufschlagung der Druckkammer 3 vornehmbar ist. Darüber hinaus kann es für bestimmte Verwendungszwecke der Mikropipette vorteilhaft sein, entlang der Kapillarenlängsachse mehrere Meßfühler und/oder Heizelemente 9 vorzusehen. Bei Einsatz geeigneter Meßfühler 9 läßt sich die Höhe der Flüssigkeitssäule 6 innerhalb der Kapillare 1 durch eine Veränderung der thermischen Leitfähigkeit detektieren. Damit ist der Meniskus der Flüssigkeitssäule durch die Regelung des Füllstandes positionierbar, wodurch eine weitere Regelungsmöglichkeit des zu erzeugenden Gasdrucks in Abhängigkeit vom Kapillarenfüllstand gegeben ist.

Bei Einsatz von Heizelementen 9 ist zusätzlich die Temperatur der Flüssigkeitssäule selbst regelbar, was zum Auslösen gewünschter chemischer Reaktionen in der Flüssigkeitssäule sinnvoll sein kann.

Bei den in den Figuren 1a bis c und 2 dargestellten Ausführungsformen ist es außerdem möglich, dem Kapillarkanal oder den Kapillarkanälen 1 über einen Teil ihrer Längsausdehnung einen verbreiterten Querschnitt 11 zu geben, wie es in Fig. 1d angedeutet ist. Eine solche Ausführungsform ermöglicht eine einmalige Probenaufnahme, die bspw. zum Befüllen einer vollständigen Titerplatte erforderlich ist.

Es liegt im Rahmen der Erfindung, das Substrat 2 und die Abdeckplatte 7 zur Kapillarenkanalmündung hin spitz zulaufend auszuführen.

Durch die Erfindung ist zugleich eine Pumpe geschaffen, die durch thermische Gas-Expansion Flüssigkeit bewegt und die geeignet ist, in einem geschlossenem System Flüssigkeit definiert in zwei Richtungen zu bewegen, da mit der Abkühlung des Gases in der Druckkammer ein Unterdruck entsteht und es somit zu einer Bewegung der Flüssigkeitssäule in Druckkammerichtung kommt.

Anhand von zwei Mikropipetten mit unterschiedlichen Druckkammervolumina soll beispielhaft die Bewegung einer im Kapillarenkanal befindlichen Flüssigkeit durch eine thermische

Gasexpansion des Druckkammervolumens beschrieben werden. Die Geschwindigkeit der Bewegung des Flüssigkeitsmeniskus wurde bestimmt, indem die Zeit seiner Bewegung entlang eines Längenmaßstabes gemessen wurde. Die Figur 3 stellt die
5 Geschwindigkeit des Flüssigkeitstransports in Abhängigkeit der eingespeisten Heizleistung dar. Die mit "+" markierten Meßpunkte bilden einen Graphen für ein Druckkammervolumen von $25,6 \text{ mm}^3$ und die mit "x" markierten einen Graphen für ein Druckkammervolumen von 10 mm^3 . Es ist zu sehen, daß die Geschwindigkeit der ausgetriebenen
10 Flüssigkeit mit steigender eingespeister Heizleistung ansteigt. Erwartungsgemäß erzeugt das kleinere Gasvolumen in der Druckkammer 3 bei gleichem Leistungseintrag einen geringeren Hub.

Des weiteren wurde das dynamische Verhalten der Mikropipette untersucht, um die Trägheit des Systems zu bestimmen. Der
15 Kapillarkanal 1 wurde dazu mit Flüssigkeit gefüllt und der Dünnschichtheizer 4 mit einer bestimmten Frequenz betrieben. Liegt eine elektrische Spannung am Dünnschichtheizer 4 an, bewegt sich die Flüssigkeit im Kapillarkanal 1 in Richtung der Kanalöffnung. Wird der Heizer ausgeschaltet, zieht sich das Gas in der Druckkammer 3 wieder
20 zusammen und die Flüssigkeit bewegt sich zurück in Druckkammerrichtung. Voraussetzung für diese Messung ist, daß sich ein Gleichgewicht der Temperatur eingestellt hat, so daß die Bewegung der Flüssigkeit nur durch die Druckdifferenz ($\Delta v = f(\Delta p) = f(\Delta T) = f(\Delta U)$) und damit die relative Temperaturänderung erfolgt. Gemessen wurde die
25 Verschiebung des Flüssigkeitsmeniskus in Abhängigkeit der halben Periode der Frequenz der eingespeisten konstanten Heizleistung $P_{\text{heiz}} = 2 \text{ W}$. Die Abhängigkeit des Hubes von der Frequenz der eingespeisten Heizleistung ist in Figur 4 wieder anhand o.g. unterschiedlicher zwei Druckkammervolumina graphisch dargestellt.

30 Es liegt im Rahmen der Erfindung, die vorgeschlagene Mikropipette mit mehreren kapillarartigen Kanälen 1 auszustatten, die mit einer oder mehreren mit Wärme beaufschlagbaren Druckkammern 3 in Verbindung gebracht sind. Ebenso liegt es im Rahmen der Erfindung, den mit
35 Flüssigkeit befüllbaren Kapillarenraum vom Rest des Systems, den

Wärmesenkenmitteln nachgeordnet, lösbar auszubilden oder mit separaten Einzel- oder Mehrfachkanülen zu verbinden.

Die Vorteile der vorgeschlagenen Mikropipette bestehen darin, daß

- 5 - das thermopneumatischen Wirkprinzip der Vorrichtung keiner bewegten Teile bedarf.
- der Meniskus der Flüssigkeitssäule mittels einer Steuerung des Gasdruckes durch eine Temperaturregelung des Dünnschichtheizers 4 positionierbar ist.
- 10 - der Meniskus der Flüssigkeitssäule durch die Regelung des Füllstandes mittels geeigneter Meßfühler (z.B. Leitfähigkeitssensoren, thermische Sensoren) positionierbar ist, wodurch eine Regelungsmöglichkeit des zu erzeugenden Gasdrucks in Abhängigkeit vom Kapillarenfüllstand gegeben ist,
- 15 - Verschmutzungen der Kapillaren und der Probenflüssigkeit durch Membranen, wie nach dem bekannten Stand der Technik, ausgeschlossen sind,
- ein definiertes Flüssigkeitsvolumen sowohl aufgenommen als auch abgegeben werden kann, wodurch sich die Mikropipette besonders gut
- 20 für Anwendungen z.B. in der automatisierten Analysentechnik eignet,
- eingeschlossene Gasblasen, die z.B. durch in der zu pipettierenden Flüssigkeit ablaufende chemische Reaktionen entstehen können, geringen Einfluß auf das Pipettierverhalten der Flüssigkeit haben.

- 25 In Figur 5 ist schließlich die Ausbildung der Erfindung als thermisch getriebener pneumo-hydraulischer Mikroaktor in einem seitlichen Schnitt dargestellt. Analog zu Fig. 1 ist hier wiederum in ein Substrat 2 ein Kapillarkanal 1 und eine Druckkammer 3 eingebracht. Auf der steifen Membran 31 der Druckkammerwandung ist ebenfalls ein
- 30 Dünnschichtwiderstandsheizter 4 aufgebracht. Statt der Flüssigkeitssäule in den Figuren 1a bis c ist hier jedoch in die Kapillare ein Stößel 10 eingelegt. In der Ausbildung nach Fig. 5 werden genannte Teile wieder von einer Glasplatte 7 abgeschlossen. Ebenso kann der Abschluß durch ein zweites spiegelsymmetrisch ausgebildetes Substrat 2 erfolgen. Der
- 35 Stößel 10 kann bspw. durch eine sogenannte Mikroabformung z.B. von Silikonmaterialien gefertigt sein. Im Beispiel ist ein Edelstahlstößel mit

- einer Masse von 3 mg eingesetzt. Beträgt das Volumen in der Druckkammer 3 bspw. 25 mm^3 und der Innendurchmesser der Kapillare 0,6 mm, so sind bei einer Heizleistung von 1,5 W Verschiebungen des Stößels um 14 mm erreichbar. Höhere Vorschübe können erzielt werden, wenn in der Druckkammer 3 zusätzlich eine Flüssigkeit vorgesehen ist, die bei Eintrag einer Heizleistung verdampft. Analog zu Fig. 1 kann auch bei dieser Ausführungsform ein abschnittsweise verbreiteter Kapillarenkanalquerschnitt 11 vorgesehen sein, dem der Stößel zumindest in einem Teillängsabschnitt in der äußeren Profilgebung angepaßt ist, so daß der Stößel unverlierbar mit dem Kapillarenkanal in Verbindung steht. An seinem freien, aus dem Kapillarkanal herausragenden Wirkende kann der Stößel 10 mit beliebigen weiteren Funktions- oder Bedienelementen in Verbindung gebracht sein.
- 15 Alle in der Beschreibung, den nachfolgenden Ansprüchen und der Zeichnungen dargestellten Merkmale können sowohl einzeln als auch in beliebiger Kombination miteinander erfindungswesentlich sein.

30.01.98

- 9 -

Bezugszeichenliste

1	-	Kapillarkanal
11	-	verbreiterter Querschnitt des Kapillarenkanals 1
2	-	Substrat
3	-	Druckkammer (Gasreservoir)
31	-	Druckkammerwandung als steife Membran
4	-	Heizmittel, insbesondere Dünnschichtwiderstandsheizter
5	-	Wärmesenkenmittel
6	-	Flüssigkeitssäule
7	-	Glasplatte
8	-	Meßfühler
9	-	Heizelemente und/oder Meßfühler
10	-	Stößel

Schutzansprüche

1. Mikropipette oder Mikroaktor bestehend aus wenigstens einem Kapillarkanal (1), der durch einen mittels Mikrostrukturierungs-
verfahren in ein Substrat (2) eingebrachten und abdeckbaren Graben
gebildet ist, der einseitig mit einer Druckkammer (3) in Verbindung
gebracht ist, der Druckkammer (3) ein ansteuerbares elektrisches
Heizmittel (4) in Form eines auf eine Außenwandung einer als steife
Membran (31) ausgebildeten Druckkammerwandung aufgebrachten
Dünnschichtheizwiderstandes (4) zugeordnet ist und ein Bereich der
Verbindung zwischen dem Kapillarkanal (1) und der Druckkammer (3)
mit Wärmesenkenmitteln (5) versehen ist und der Kapillarkanal (1)
eine Flüssigkeitssäule (6) oder einen Stößel (10) aufnimmt.
2. Mikropipette oder Mikroaktor nach Anspruch 1, dadurch
gekennzeichnet, daß einer Druckkammer (3) mehrere Kapillarkanäle
(1) zugeordnet sind.
3. Mikropipette oder Mikroaktor nach Anspruch 1 oder 2, dadurch
gekennzeichnet, daß die Druckkammer (3) und der Kapillarkanal (1)
oder die Kapillarkanäle in ein gemeinsames Substrat (2) eingebracht
sind.
4. Mikropipette oder Mikroaktor nach Anspruch 1, dadurch
gekennzeichnet, daß dem Heizmittel (4) ein Temperaturmeßfühler (8)
zugeordnet ist.
5. Mikropipette oder Mikroaktor nach Anspruch 1, dadurch
gekennzeichnet, daß die Wärmesenkenmittel durch beidseitig an einen
Kapillarkanal (1) anliegende, in das Substrat (2) eingebrachte
Ausnehmungen (5) gebildet sind.
6. Mikropipette oder Mikroaktor nach Anspruch 1, dadurch
gekennzeichnet, daß die Wärmesenkenmittel durch den Kapillarkanal,
insbesondere die Kapillarkanäle (1) außen über das Substrat (2) und
die Deckplatte (7) erfassende Kühlkörper gebildet sind.

30.01.98

- 11 -

7. Mikropipette oder Mikroaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß entlang der Kapillarenlängsachse mehrere Meßfühler und/oder Heizelemente (9) vorgesehen sind.
- 5
8. Mikropipette oder Mikroaktor nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß dem Kapillarkanal oder den Kapillarkanälen (1) über einen Teil ihrer Längsausdehnung ein verbreiteter Querschnitt (11) gegeben ist.
- 10

30.01.98

1/4

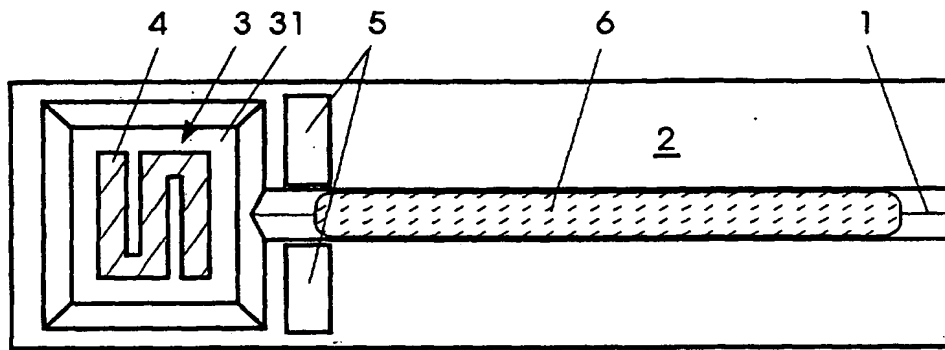


Fig. 1a

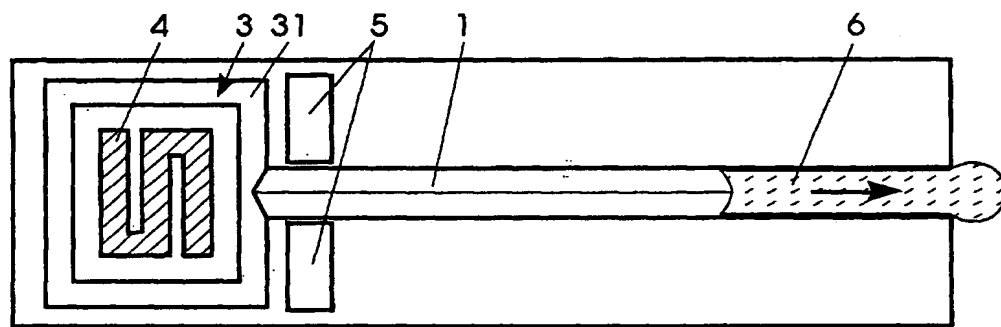


Fig. 1b

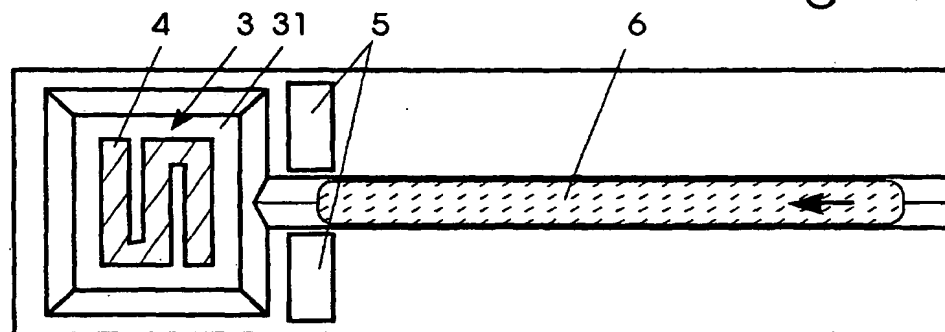
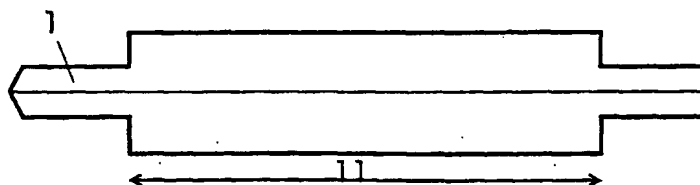


Fig. 1c

Fig. 1d



30.01.98

2/4

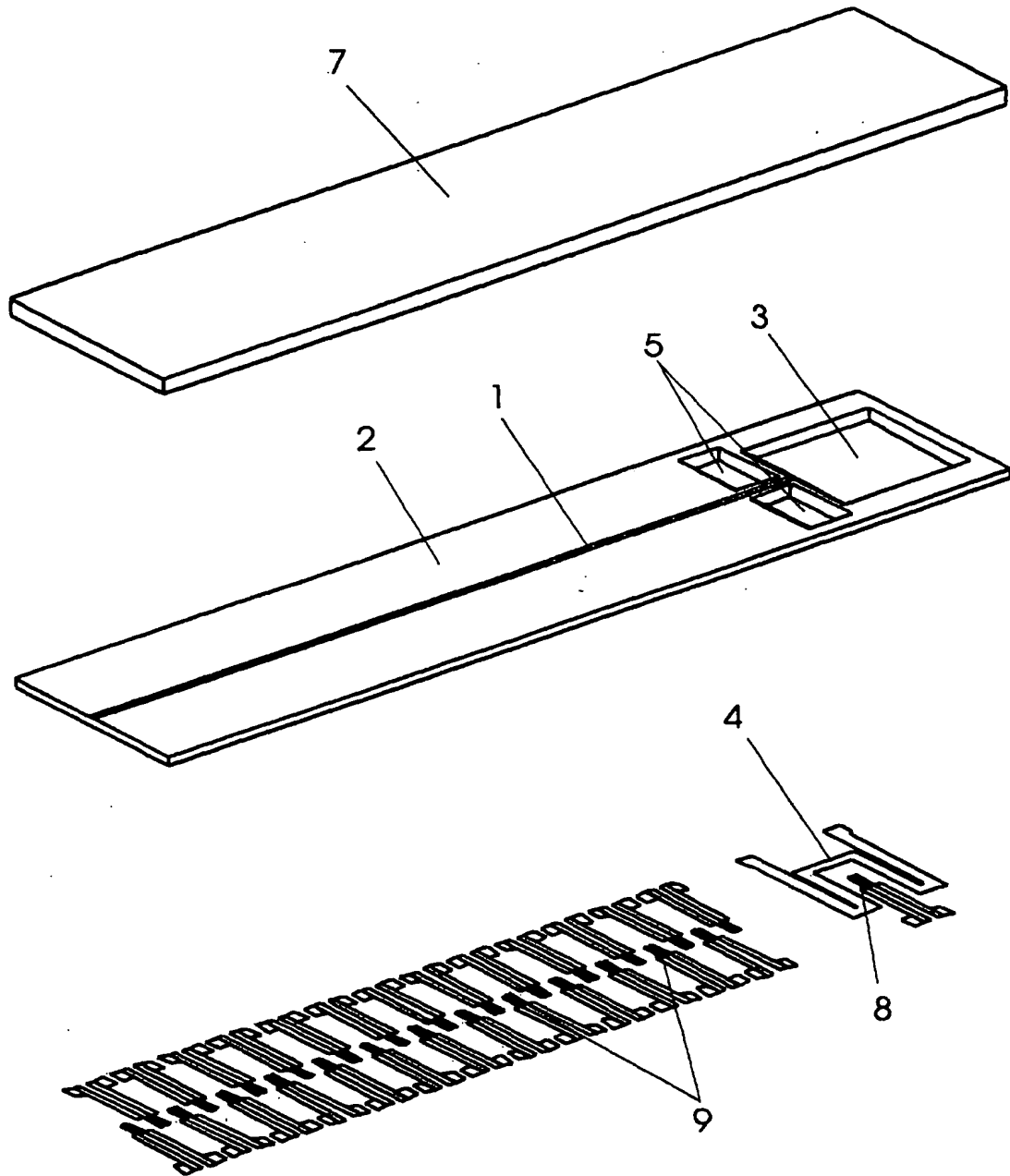


Fig. 2

30.01.98

3 / 4

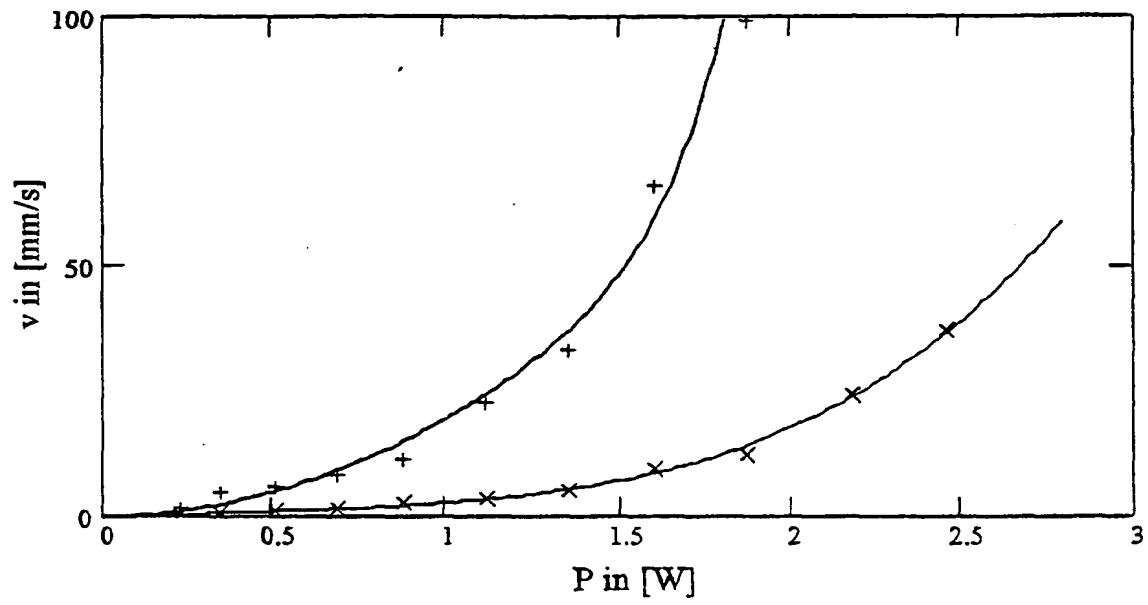


Fig. 3

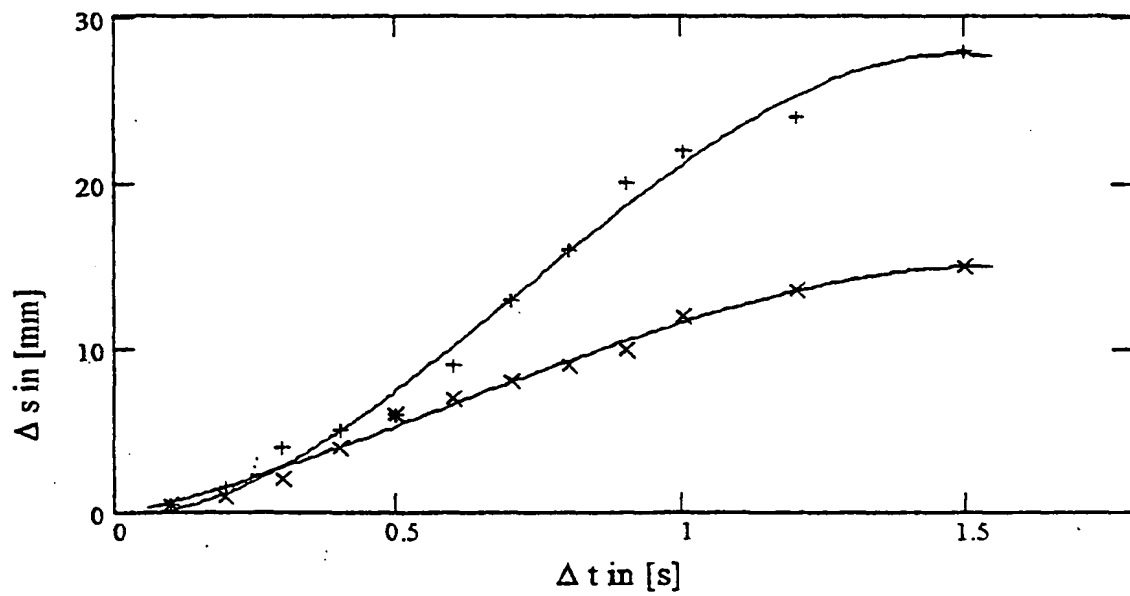


Fig. 4

30.01.98

4 / 4

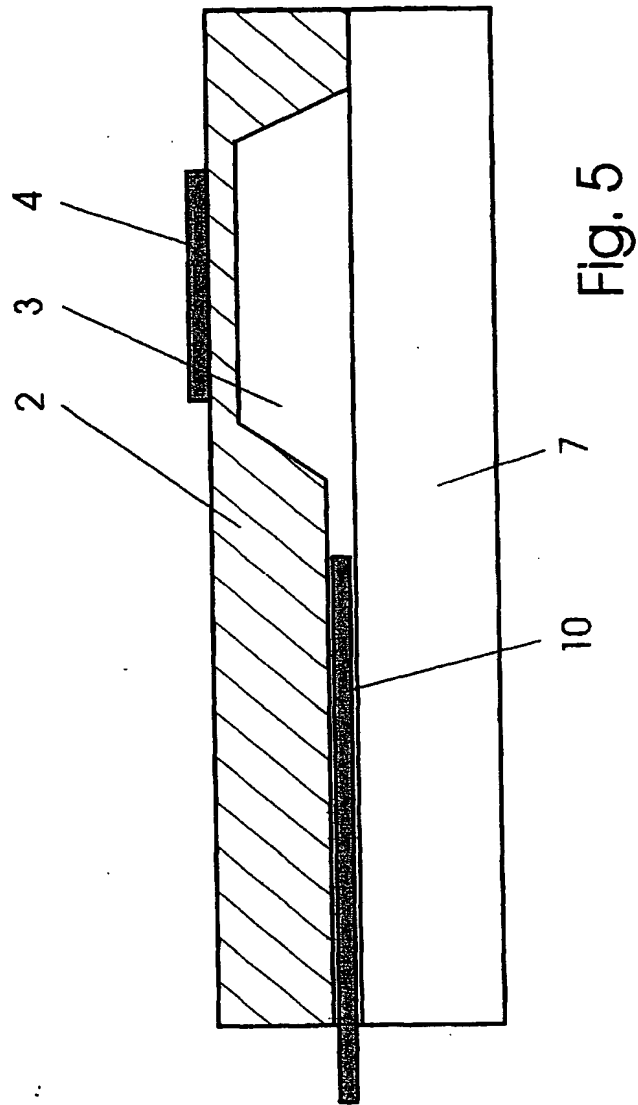


Fig. 5

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.